État actuel des connaissances sur la photosynthèse chez les Bactéries.

Par Raymonde Villars.

Les bactéries vertes et pourpres se développent dans la boue des bassins et des étangs, elles ont pu être obtenues en culture pure sur milieu minéral ou contenant de la matière organique, à la lumière infra-rouge (pour empêcher le développement des Algues) et en anaérobiose.

Pigments : Toutes contiennent un pigment vert la *bactériochlorine* isolée par Nadson (1903) et appelée récemment *bactériochlorophylle* (Schneider) à cause de sa parenté chimique avec la chlorophylle. Sa formule a été établie par Fischer et Lambrecht (1937). Son spectre d'absorption est différent de celui de la chlorophylle : bande D, ultra-rouge et violet.

Les chlorobactéries ne possèdent que ce pigment vert, les bactéries pourpres ont en plus des pigments pourpres, désignés par *bactérioérythrine* (Arcikovsky), qui semblent appartenir aux caroténoïdes. Le complexe pigmentaire de ces bactéries est appelé *bactériopurpurine* (Lankester).

Physiologie : Parmi ces bactéries les unes ont de véritables autotrophes, elles assimilent le gaz carbonique et elles exigent pour cela de l'énergie lumineuse et en plus des composés sulfurés réducteurs : par exemple des sulfures qui existent dans les limons où se développent ces bactéries et que celles-ci transforment en soufre ou en sulfates ; les bactéries vertes sont dans ce cas et une partie des Rhodobactéries auxquelles on donne le nom de *Thiodoraceæ.* D'autres bactéries pourpres assimilent le gaz carbonique à la lumière, mais la présence d'aliments carbonés et non de substances sulfurées leur est indispensable pour ce travail, ce sont les *Athiorodaceæ.* Cette dualité des bactéries pourpres explique pourquoi les résultats des auteurs étaient contradictoires. Tandis que Winogradsky (1887) expérimentait sur des formes sulfureuses et concluait à l'autotrophie des bactéries pourpres, les formes non sulfureuses sont tombées dans l'oubli jusqu'aux travaux de Molisch (1907) qui concluait à l'hétérotrophie. Si on compare les résultats de ces deux auteurs on voit qu'il faut établir une séparation nette entre les unes et les autres. On a maintenant des connaissances précises sur le métabolisme de ces différents groupes de bactéries.

Les *bactéries vertes* ont été étudiées par VAN NIEL et MÜLLER, elles oxydent les sulfures en soufre qui s'accumule à l'extérieur des cellules, l'énergie libérée par cette oxydation, à laquelle s'ajoute l'énergie lumineuse qui est indispensable à ces organismes permet l'assimilation du gaz carbonique. Les *Thiodoraceæ* ont surtout été étudiées par ces mêmes auteurs et par ROELOFSEN. Tandis que les bactéries vertes peuvent seulement utiliser les sulfures comme combinaison sulfureuse oxydable, les bactéries sulfureuses pourpres peuvent employer des sulfures, sulfites, hyposulfites et le soufre lui-même (cristallisé, colloïdal ou le soufre libéré par les bactéries vertes). Elles exigent la présence, en plus de CO^2 (bicarbonate), de sulfure de sodium par exemple et de lumière. Alors que la lumière n'a aucune importance pour les bactéries sulfureuses incolores, les bactéries pourpres ne se développent pas en l'absence de lumière. L'auteur a démontré quantitativement l'existence de la réaction suivante :

$$2\,CO^2 + H^2\,S + 2\,H^2\,O = 2\,CH^2\,O + SO^4\,H^2$$

qui est endothermique et nécessite l'intervention de la lumière. Le premier temps de la réaction est le suivant :

$$CO^2 + 2\,H^2\,S \rightarrow CH^2\,O + H^2\,O + 2\,S$$

qui montre une grande similitude avec l'équation de photosynthèse des plantes vertes :

$$CO^2 + 2\,H^2\,O \rightarrow CH^2\,O + H^2\,O + O^2$$

Dans le premier cas S est le corps excrété, tandis que dans le deuxième cas, il est remplacé par O^2, parce que le donneur d'hydrogène est différent. D'une manière générale on peut représenter toute photosynthèse par la réaction :

$$CO^2 + 2\,H^2\,A \rightarrow CH^2\,O + H^2O + 2\,A$$

répondant à la réaction métabolique type de transfert d'hydrogène donnée par KLUYVER et DONKER :

$$AH + B \rightarrow A + B\,H$$

Pour les plantes vertes le donneur d'hydrogène est H^2O, pour les bactéries vertes H^2S et les *Thiodoraceæ* H^2S, SO^3H^2, $S^2O^3H^2$. Les bactéries vertes et les bactéries sulfureuses pourpres sont des organismes strictement anaérobies, il est nécessaire que l'oxygène soit complètement éliminé du milieu, c'est parce qu'il restait de l'oxygène que les premiers essais de culture de VAN NIEL en présence du soufre, sulfite et hyposulfite de sodium n'avaient pas réussi.

Il faut noter qu'il existe une différence remarquable entre les bactéries sulfureuses vertes et pourpres. Les bactéries vertes peuvent oxyder le sulfure de sodium par exemple avec réduction simultanée

de CO^2, ce qui conduit à la formation de soufre qui, pour ces organismes, est le produit final de l'oxydation. Les bactéries sulfureuses pourpres peuvent aller plus loin et oxyder le soufre produit à l'état de sulfate et cette oxydation est liée à la réduction simultanée de CO^2. Ceci se produit aussi bien quand le soufre est accumulé dans les cellules (grandes formes : *Chromatium Okenii*) que lorsqu'il est excrété dans le milieu de culture.

Or, tandis que chez les bactéries sulfureuses incolores, il faut oxyder un grand nombre de molécules sulfurées pour réduire une molécule de CO^2 (environ 32 selon Waksman et Starkey pour *Thiobacillus thiooxydans*), il suffit chez les bactéries pourpres, d'après l'équation donnée ci-dessus, d'oxyder une molécule H^2S pour réduire deux molécules CO^2 et ceci en raison de l'apport d'énergie lumineuse. L'autotrophie des *Thiorodoraceæ*, qui exigent à la fois de l'énergie lumineuse et un réducteur, relève donc à la fois de la photosynthèse et de la chimiosynthèse.

Les *Athiorodaceæ* ont été étudiées par Van Niel et principalement par Gaffron. Van Niel a obtenu des cultures de *Rhodobacillus palustris*, *Spiralis rubrum* et *Streptococcus varians* à l'obscurité, en présence de matières organiques, mais dans des conditions aérobies seulement. Les bactéries vivent dans ce cas en hétérotrophes banales et les réactions d'oxydation remplacent les réactions photosynthétiques.

D'autre part, il a été constaté que ces différentes bactéries se développent très activement en l'absence d'oxygène, à condition de recevoir de la lumière. Elles ont besoin soit d'oxygène, soit de lumière. L'auteur conclut que les bactéries pourpres non sulfureuses se révèlent comme des organismes photosynthétiques pour lesquels la présence de substances réductrices de nature organique est indispensable.

Gaffron a montré que *Rhodobacillus* se multiplie rapidement dans une solution nutritive composée d'extrait de levure et de bicarbonate de sodium, dans des conditions anaérobies (atmosphère d'azote ou d'argon avec 5 % de gaz carbonique) et à la lumière, il a obtenu en quelques jours de belles cultures, alors qu'à l'obscurité aucune croissance ne se produit. La différence entre le métabolisme des bactéries pourpres *(Rhodovibrio)* et celui des bactéries rouges du soufre *(Thiocystis)* est très nette. Si on ajoute à une suspension de *Rhodovibrio* une petite quantité de butyrate de sodium et qu'on éclaire ensuite, il se produit pour une molécule d'acide butyrique une assimilation de 0,4 mol. de gaz carbonique et le groupement carboxyle est réduit, à l'obscurité le butyrate n'est pas attaqué. Si on fait la même expérience avec *Thiocystis* le gaz carbonique n'est pas assimilé.

Il a fait une étude détaillée des substances qui peuvent être

utilisées comme substrats pour la réduction du gaz carbonique.

Les substrats. — L'auteur a expérimenté avec des substances organiques les plus diverses et il a constaté que les substances utilisées sont les acides aliphatiques. *La présence d'un groupement carboxyle est la condition fondamentale pour qu'un corps puisse servir de substrat à l'assimilation.* L'absorption du gaz carbonique se produit avec une rapidité presque constante, puis s'arrête ensuite brusquement, l'éclairage prolongé est alors sans effet. *Le volume de gaz carbonique absorbé est conditionné par la quantité de substance organique ajoutée* : les mêmes quantités de butyrate de calcium produisent l'assimilation des mêmes quantités de gaz carbonique. Le métal du sel d'acide gras est mis en liberté dans la solution et se retrouve à l'état d'hydrate ou de bicarbonate. Le groupement carboxyle est donc réduit comme le gaz carbonique. Une recherche quantitative du gaz carbonique fixé se compose donc de deux parties : déterminer d'une part la quantité de gaz qui est utilisée pendant l'éclairement et, d'autre part, la quantité de gaz carbonique liée chimiquement qui a disparu au cours de l'expérience. *Le volume de CO^2 assimilé dépend également de la grosseur de la molécule des acides gras réagissants.* L'auteur a recherché le nombre de molécules de gaz carbonique assimilé par les bactéries pourpres en présence d'une molécule d'acide acétique, propionique, butyrique et il a constaté que la quantité de CO^2 assimilé augmente avec la longueur de la molécule d'environ 0,5 mol. CO^2 par groupement méthylénique. Il a construit un graphique en portant en abcisses le nombre de groupements CH^2 existant dans la molécule d'acide gras et en ordonnées les volumes de gaz carbonique assimilé exprimés en molécules. En deux points cette augmentation est interrompue : le passage de l'acide propionique à l'acide butyrique, de même que le passage de l'acide caproïque (C^6) à l'acide heptylique ne change pas le volume de gaz carbonique assimilé. Pour les acides gras supérieurs, à partir de l'acide nonylique (C^9) on obtient des résultats mal concordants : la masse de gaz carbonique absorbée est située au-dessus ou au-dessous de celle à laquelle on pouvait s'attendre.

Il était également intéressant de rechercher quels sont les *effets de la substitution.* C'est la vitesse d'assimilation qui a servi de base de comparaison. Si les atomes d'hydrogène du carbone situé en α par rapport au groupement carboxyle sont substitués, la réaction se produit beaucoup plus lentement : cas de l'acide acétique et des acides méthyl-, éthyl-, et diéthylacétique, la réaction est extrêmement lente avec l'acide diéthylacétique.

Si l'on compare après le même temps l'absorption de CO^2 évaluée en mm^3 des bactéries pourpres en présence d'acide valérianique $CH^3 (CH^2)^3 COOH$ et d'un de ses isomères où l'atome de C α est

bisubstitué : $\begin{matrix} CH^3 - CH^2 \\ CH^3 \end{matrix} \!\!> CH - COOH$, on voit qu'avec ce dernier elle est nettement plus faible, de même pour l'acide capronique $CH^3 - (CH^2)^4 - COOH$ et son isomère $(CH^2 - CH^2)^2\, CH - COOH$ avec lequel l'absorption de gaz carbonique est particulièrement faible.

Une substitution sur un atome de C plus éloigné n'a pas d'influence sur la vitesse d'assimilation : en présence des acides valérianiques isomères $CH^3 - (CH^2)^3 - COOH$ et $(CH^3)^2\, CH - CH^2 - COOH$ la quantité de gaz carbonique absorbée par les bactéries pourpres après un temps *t* est la même ; aussi pour les acides caproniques isomères : $CH^3 - (CH^2)^4 - COOH$ et $(CH^3)^2\, CH - (CH^2)^2 - COOH$.

Avec la substitution du dernier atome d'hydrogène du C α le pouvoir d'assimilation disparaît presque complètement : acide triméthylacétique, acide α-oxy-isobutyrique $(CH^3)^2 - C\,(OH) - COOH$, acide valérianique $(CH^3)^3 - C - COOH$, (avec lequel on n'a noté aucune absorption).

Parmi les acides α-cétoniques, avec l'acide pyanoique $CH^3 - CO - COOH$ l'assimilation est assez rapide, probablement parce qu'il est facilement transformé. La grande résistance à l'attaque par les bactéries de l'acide glycolique (ou acide oxy-acétique) $CH^2\,OH - COOH$ est un fait frappant comparativement à celle de l'acide acétique. Avec les acides aminés l'absorption de gaz carb. est très faible (acide aspartique). On peut multiplier à volonté les exemples sur la signification de l'atome de carbone α.

Il convient de remarquer que les acides dicarboniques reagissent plus lentement que les acides monocarboniques.

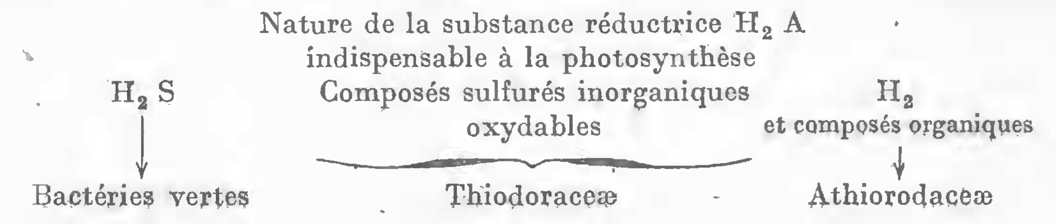
L'assimilation photochimique par les bactéries pourpres de substances organiques ne se produit rapidement que lorsqu'il existe un *groupement carboxylméthylénique libre dans la molécule aliphatique.*

Les acides non saturés essayés ont tous été assimilés en même temps qu'une certaine quantité de gaz carbonique. On a comparé l'absorption de CO^2 avec l'acide butyrique et l'acide crotonique qui présentent le même nombre d'atomes de carbone, mais diffèrent par deux atomes d'hydrogène. La valeur moyenne avec l'acide butyrique est de 1,4 mol. CO^2, alors qu'avec l'acide crotonique elle est de 1,06 ; une différence de 2 H cause une différence de 0,34 mol. CO^2.

Gaffron a aussi montré que ces microorganismes peuvent assimiler l'acide carbonique en présence d'hydrogène moléculaire, d'après les mensurations métaboliques mol. H^2/mol. $CO^2 = 2$, ce qui correspond à l'équation :

$$CO^2 + 2\,H^2 \rightarrow H^2\,O + CH^2\,O.$$

De même les bactéries pourpres sont capables d'assimiler à la lumière les acides aliphatiques, en utilisant le pouvoir réducteur de l'hydrogène. L'acide acétique, lactique et malique sont rapidement réduits ; l'acide glycolique est réduit beaucoup plus lentement. Van Niel s'appuyant sur ces différentes considérations a donné le schéma suivant mettant en évidence la relation entre les trois groupes de bactéries photosynthétiques :



Chez les bactéries colorées nous nous trouvons en présence de réactions variées de *photo-oxydoréductions* dans lesquelles le gaz carbonique peut être réduit par des agents divers : H^2S, S, SO^3H^2, $S^2O^3H^2$, acides aliphatiques, hydrogène, avec le concours indispensable de la lumière ; il semble même qu'une fonction acide organique puisse être réduite intramoléculairement par une chaîne hydrogénée à l'aide de la lumière.

En ce qui concerne le *premier produit résultant des photosynthèses bactériennes* les travaux de Gaffron l'ont amené à la conclusion qu'il se forme deux composés différents dont l'un correspond à la formule $C^4H^6O^2$ et dont l'autre est inconnu.

Ainsi pour l'assimilation de 1 mol. d'acide acétique, il y a absorption d'une 1/2 mol. H^2, ce qui peut s'interpréter par la réaction suivante :

$$\begin{matrix} CH^3COOH \\ CH^3COOH \end{matrix} + \begin{matrix} H \\ | \\ H \end{matrix} \longrightarrow C^4H^6O^2 + 2\,H^2O$$

De même pour chaque mol. d'acide heptylique il est absorbé 1 mol. d'acide carbonique.

$$C^7H^{14}O^2 + CO^2 \longrightarrow C^8H^{14}O^4$$

qui ne diffère de $(C^4H^6O^2)^2$ que par 1 mol. d'hydrogène.

A l'appui de ceci il y a le fait que les analyses chimiques ont montré que la composition élémentaire des bactéries pourpres correspond presque à la formule $C^4H^6O^2$ à dix pour cent près d'azote. On a aussi pu extraire par le chloroforme des cellules bactériennes un corps dont la formule est $[C^4H^6O^4]^n$.

Laboratoire d'Anatomie comparée des Végétaux vivants et fossiles dn Muséum.

BIBLIOGRAPHIE

BUDER (J.). *Jahrb. f. wis. bot.*, *58*, 525-624, 1919.

FISCHER (H.) et LAMBRECHT (R.). *Zeits. f. physical Chem.*, *249*, 1-3, 1937.

GAFFRON (H.). *Biochem. Zeit.*, *260*, 1, 1933 ; *269*, 447, 1934 ; *275*, 301, 1935 ; *279*, 1, 1935.

ROELOFSEN. On the photosynthesis of the Thiodoraceae, Thèse, Utrecht, 1935.

SCHNEIDER (E.). *Ber. d. deuts. bot. Ges.*, *52*, 96-100, 1934.

VAN NIEL (C.-B.). *Archiv. f. Microbiol.*, *3*, 1-107, 1932 ; *7*, 322-358, 1936.

— et MULLER (F.-M.). *Rev. trav. bot. néerl.*, *28*, 245-274, 1931.